

TÜBERKÜLOZ HASTALARINDAN 2014-2022 YILLARI ARASINDA İZOLE EDİLEN MİKOBAKTERİLERİN ANTI-TÜBERKÜLOZ İLAÇ DUYARLILIKLARI

Yusuf YAKUPOĞULLARI, Barış OTLU, Mehmet Sait TEKEREKOĞLU, Alper POLAT

Y. Yakupoğulları: 0000-0002-5545-3467, B. Otlu: 0000-0002-6220-0521, M. S. Tekerekoğlu: 0000-0001-7284-3427, A. Polat: 0009-0005-0093-6559

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MALATYA

Öz

Anti-tüberküloz (anti-TB) ilaç direnci, tedavi başarısını etkileyen başlıca faktörlerden olup bölgesel direnç eğilimlerinin analizi etkili veremle savaş politikalarının geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Bu çalışmada, bölgemizde son dokuz yılda tüberküloz (TB) hastalarından izole edilen mikobakterilerin anti-TB ilaç duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır. Malatya TB Tanı Laboratuvarında 2014-2022 yılları arasında çalışılan klinik örneklerin TB kültüründe üretilen izolatların ilaç duyarlılık verileri geriye yönelik olarak ilgili laboratuvarın elektronik veri kaynağından toplanıp analiz edildi. Tüberküloz kültürü Lowenstein Jensen besiyeri ve VersaTrek otomatize TB kültür ve duyarlılık cihazında (TREK Diagnostic Systems, ABD) yapıldı. İzolatların izoniazid (INH), rifampisin (RIF), pirazinamid (PZA), streptomisin (STR) ve etambutol (ETH) duyarlılıkları aynı otomatize sistemde çalışıldı. Dokuz yıllık çalışma süresince 415'i Mycobacterium tuberculosis kompleks (MTBC) ve 14'ü tüberküloz dışı mikobakteri (TDM) olmak üzere toplam 429 mikobakteri izolatının ilaç duyarlılık özellikleri incelendi. Çalışılan MTBC suşlarının 329'u (%79.2) tüm ilaçlara duyarlıydı ve yıllara göre bu oran %63 ila %86.4 arasında değişiyordu. Soyutlanan MTBC suşlarında en yüksek direnç 42 (%10.1) izolatla PZA ve 33 (%8) izolatla INH'a karşı iken, en düşük direnç 1 (%0.2) izolat ile EMB'ye karşı idi. Saptanan 14 TDM izolatının tamamı PZA ve INH direnci gösterirken, en düşük direnç 9 (%64.3) izolatla yine EMB'ye karşı oldu. On (%2.4) MTBC izolatı iki, 5 (%1.2) izolat ise üç anti-TB ilaca dirençli bulundu. Bu çalışmada, bölgemizin anti-TB ilaç direncinin ulusal direnç sıklığına göre daha düşük olduğu saptanmıştır. PZA direnç oranı yüksek bulunmakla birlikte, bu ilacın test edilmesinde bilinen teknik sorunlar ve intrinsik dirençli Mycobacterium bovis türünün ayrılmamış olması dikkate alınmalıdır. Gereksiz antimikrobiyal kullanımını, tedavinin erken terk edilmesini ve dirençli fenotiplerin toplumda yayılımını engelleyici önlemlerin güçlendirilmesi TB tedavisinin en önemli bileşeni olan anti-TB ilaç etkinliğinin korunmasına katkı sunacaktır.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal direnç, Anti-TB ilaç, İzoniazid, Rifampisin, Tüberküloz

ABSTRACT

Anti-Tuberculosis Drug Susceptibility of Mycobacteria Isolated from the Patients with Tuberculosis between 2014 and 2022

Anti-tuberculosis (anti-TB) drug resistance is one of the main factors affecting the success of treatment, and the analysis of regional resistance trends allows the development of effective tuberculosis (TB) control policies. In this study, it was aimed to investigate the anti-TB drug susceptibility of mycobacteria isolated from TB patients in our region in the last nine years. Drug susceptibility data of isolates grown in TB culture of clinical samples studied in Malatya TB Diagnostic Laboratory between 2014-2022 were collected retrospectively from the electronic data source of the relevant laboratory and analyzed. Tuberculosis culture was performed on Lowenstein Jensen medium and VersaTrek automated TB culture and susceptibility device (TREK Diagnostic Systems, USA). The isoniazid (INH), rifampicin (RIF), pyrazinamide (PZA), streptomycin (STR) and ethambutol (ETH) susceptibilities of the isolates were studied in the same automated system. During the nine-year of study period, drug susceptibility characteristics of a total of 429 mycobacteria strains including 415 Mycobacterium tuberculosis complex (MTBC) and 14 non-tuberculous mycobacteria (TDM) were investigated. Of the studied MTBC isolates, 329 (79.2%) were susceptible to all drugs and, the ratio varied between 63% and 86.4% during the study years. A total 42 (10.1%) of the isolated MTBC strains showed PZA and 33 (8%) INH resistance, the lowest resistance was detected against EMB with 1 (0.2%) isolate. While all 14 TDM isolates were resistant to PZA and INH, the lowest resistance was also against EMB with 9 (64.3%) isolates. Ten (2.4%) MTBC isolates were resistant to two and 5 (1.2%) isolates were resistant to three anti-TB drugs.

İletişim adresi: Yusuf Yakupoğulları, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MALATYA
GSM: (0505) 278 22 75

e-posta: yusufyakoup@yahoo.com

Received/Geliş: 19.09.2023 Accepted/Kabul: 10.11.2023 Published Online/Online Yayın: 31.12.2023

Atf/Cite as: Yakupoğulları Y, Otlu B, Tekerekoğlu MS, Polat A. Tüberküloz hastalarından 2014-2022 yılları arasında izole edilen mikobakterilerin anti-tüberküloz ilaç duyarlılıkları. ANKEM Derg. 2023;37(3):74-81.

In this study, it was determined that the anti-TB drug resistance of our region was lower than the national resistance frequency. Although the PZA resistance rate is high, known technical problems in testing this drug and the fact that the intrinsically resistant Mycobacterium bovis species have not been differentiated should be taken into consideration.

Strengthening measures to prevent unnecessary antimicrobial use, early discontinuation of treatment and the spread of resistant phenotypes in the community will contribute to the preservation of the effectiveness of drugs, which are the most important components of TB treatment, for many years.

Keywords: Antimicrobial resistance, Anti-TB drug, Isoniazid, Rifampicin, Tuberculosis

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), *Mycobacterium tuberculosis* başta olmak üzere bazı mikobakteri türleri tarafından oluşturulan kronik seyirli bir enfeksiyondur. Hastalık, en sık akciğerde yerleşim göstermekle birlikte böbrek, bağırsaklar, kemik ve merkezi sinir sistemi gibi birçok organda tutulum yapabilmektedir⁽¹⁾. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre her yıl dünyada yaklaşık 10 milyon TB vakası saptanmakta ve 1.5 milyon insan hayatını bu nedenle kaybetmektedir⁽⁷⁾. Günümüzde tüm ölümler arasında tek patojen kaynaklı mortalitenin en sık nedeni durumunda olan TB'nin⁽⁶⁾ eradikasyonu için global bir işbirliği ile "TB-End" stratejisi uygulamaya konulmuş ve bu amaçla önemli miktarda mali kaynak ayrılmıştır⁽¹⁴⁾.

Modern tıptaki tüm gelişmelere rağmen TB halen tanısı en zor yapılan enfeksiyon hastalıklarındandır. Bu durum hastalığın eradikasyonu için önemli bir sorun teşkil etmekte ve tahminler yıllık 3 milyon TB hastasına halen ulaşamadığını öngörmektedir⁽¹⁰⁾. Tüberküloz eradikasyonundaki diğer bir önemli sorun ise anti-tüberküloz (anti-TB) ilaçlara karşı gittikçe artan dirençtir⁽⁶⁾. Yapılan çalışmalarda ilaç direncinin TB'nin nüksü ve TB nedeni mortaliteyi arttıran bağımsız bir değişken olduğu ortaya konulmuştur⁽²⁾.

Dünya Sağlık Örgütü, 2015-2021 yılları arasında yıllık ortalama 500 bin dolayında çoklu ilaca dirençli (ÇİD) veya rifampisin-dirençli (RR) TB olgusu olduğunu; bunlardan 200 bin dolayında hastanın tespit edilip tedavi altına alındığını bildirmiştir⁽⁷⁾. Ülkemizde ise 2010-2013 yılları arasında ÇİD TB oranı %5 ila %5.4 iken 2016-2018 yılları arasında bu durum %3.2 dolayına gerilemiştir⁽¹⁶⁾. Global veya ülke düzeyinde TB istatistikleri yıllık olarak yayınlanmakla birlikte direncin fazla olduğu bölgelerde buna neden olan risk faktörlerinin saptanıp giderilmesi ve direncin daha düşük olduğu bölgelerde buna sağlayan faktörlerin aydınlatılarak buna göre veremle savaş politikalarının düzenlenmesine gereksinim vardır. Bu nedenle, bölgesel duyarlılıkların belli aralıklarla analiz edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada, yaklaşık 800 bin nüfuslu bir bölgenin TB Tanı Laboratuvarının son dokuz yıllık verilerinin geriye dönük incelenerek anti-TB ilaç direncinde oluşan değişimin saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma dizaynı, kapsam ve hasta seçimi

Malatya ili TB Tanı Laboratuvarı'na 01 Ocak 2014 ile 31 Aralık 2022 tarihleri arasında gönderilen klinik numuneler için yapılan TB kültüründe üreyen mikobakteri türlerinin saptanan ilaç duyarlılıklarına ait sonuçları geriye dönük olarak kesitsel bir çalışma kapsamında değerlendirildi. Hastaların yaş ve cinsiyet gibi demografik özellikleri ve numune türü, üreyen mikobakteri türü ve ilaç duyarlılıklarına ait verileri Malatya TB Tanı Laboratuvarının elektronik kayıtlarından sorgulanarak elde edildi. Bu çalışma, İnönü Üniversitesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulunun 05.09.2023 tarih ve 2023/4873 sayı numaralı onayı ile yapıldı.

Çalışma dönemi içinde laboratuvara ulaştırılan klinik numuneler içinden patojen mikobakteri üremesi olan tüm örnekler çalışmaya dahil edildi. Aynı hastadan bir tedavi dönemi içinde aynı klinik örnekten tekrar eden izolatlardan sadece biri çalışmaya alındı. Aynı hastadan bir tedavi dönemi sonrası izole edilmesi durumunda veya aynı hastadan izole edilen ve farklı duyarlılık profili gösteren izolatların her biri çalışmaya alındı. Tüberküloz Dışı Mikobakteri (TDM) üremesi durumunda klinisyenin patojen kabul edip ilaç duyarlılığı analizini talep ettiği örnekler çalışmaya dahil edildi, diğer TDM üremeleri çalışma dışı bırakıldı.

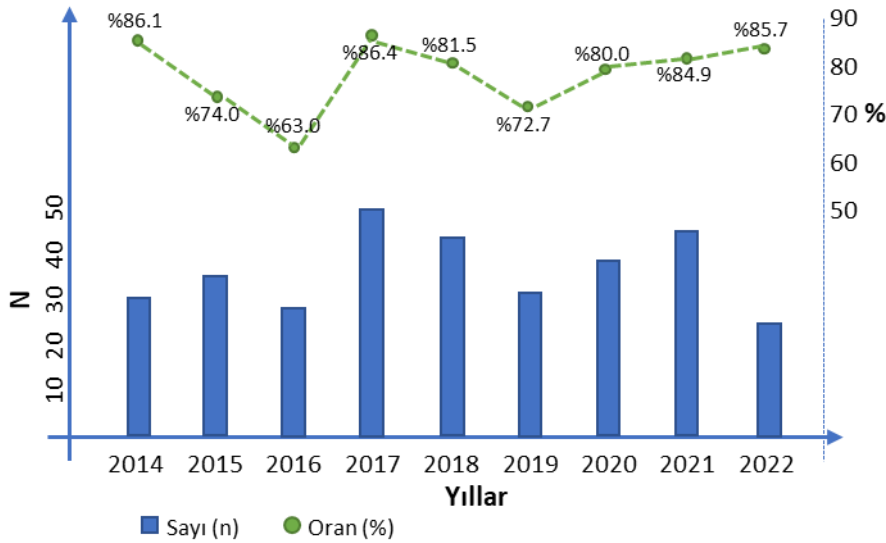
Laboratuvar çalışmaları

Hastalardan gönderilen numuneler için numune türüne göre uygun olarak homojenizasyon, dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemi yapıldı. Bu amaçla %4 sodyum hidroksit + N-asetil-L-sistein kiti (RTA Laboratuvarları, Türkiye) kullanıldı. İşlenen örnekler Erlich Ziehl Neelsen (EZN) yöntemi ile aside dirençli boyama yöntemi ile boyandı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi. Örnekler içinde *Mycobacterium tuberculosis* basil kompleksi (MTBC) türlerine ait DNA varlığı gerçek zamanlı PCR yöntemi ile GeneXpert MTB/RIF Ultra assay (Cepheid Inc., ABD) veya BD Maks MDR-TB (Becton, Dickinson and Company, Kanada) kitleri kullanılarak araştırıldı. İşlenmiş örnekler sekiz haftalık TB kültürüne alındı. Bu amaçla Lowenstein–Jensen besiyeri (RTA Labs., Türkiye) ve VersaTREK otomatize TB kültür ve duyarlılık sistemi (TREK Diagnostic Systems, ABD) kullanıldı. Kültürde üreyen mikobakteri türlerinin izoniazid (INH), rifampisin (RIF), pirazinamid (PZA), streptomisin (STR) ve etambutol (ETH) duyarlılıkları aynı otomatize sistem kullanılarak çalışıldı.

BULGULAR

Çalışma süresince toplam 404 hastadan [167 (%41.3) kadın ve 237 (%58.7) erkek; medyan yaş 41.65 (min:1, maks:92)] yıl olmak üzere 429 mikobakteri türü izole edildi ve anti-TB ilaç duyarlılığı çalışıldı. Üreme olan klinik örneklerin 245'i (%57.1) balgam, 58'i (%13.5) doku biyopsisi, 37'si (%8.6) abse, 32'si (%7.5) bronkoalveolar lavaj sıvısı, 14'ü (%3.3) idrar ve geri kalan 43'ü (%10) ise plevral sıvı, peritoneal sıvı, beyin omurilik sıvısı ve açlık mide suyu gibi örneklerdi.

Tüberküloz kültüründe üreyen mikobakteri türlerinin 415'i MTBC ve geri kalan 14'ü ise TDM idi. İzole edilen MTBC türlerinin 329'u (%79.2) çalışılan tüm ilaçlara duyarlı iken çalışma yılları içinde bu duyarlılığın %63 ila %86.4 arasında değiştiği gözlemlendi. MTBC izolatları arasında tüm anti-TB ilaçlara duyarlı olanların yıllara göre sayı ve oranları Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Tüm anti-TB ilaçlara duyarlı MTBC izolatlarının yıllara göre dağılımı.

Çalışma süresince soyutlanan 415 MTBC suşunun 42'si (%10.1) PZA ve 33'ü (%8) INH direnci gösterirken bu suşlar arasında en düşük direnç 1 (%0.2) izolat ile EMB'ye karşı idi. Saptanan 14 TDM izolatının tamamı PZA ve INH direnci gösterirken en düşük direnç 9 (%64.3) izolatla yine EMB'ye karşı oldu. Çalışma süresince saptanan mikobakteri türlerinin anti-TB ilaçlara karşı olan direnç sıklığı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. 2014-2022 yılları arasında izole edilen *Mycobacterium* spp. suşlarında anti-TB ilaçlara direnç sıklığı.

Yıllar	Dirençli İzolat (n, %)				
	INH	RIF	SM	EMB	PZA
2014					
MTBC (n=36)	1 (2.8)	0 (0.0)	1 (2.8)	0 (0.0)	4 (11.1)
TDM (n=2)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	1 (50)	2 (100)
2015					
MTBC (n=50)	5 (10.0)	1 (0.5)	3 (6.0)	0 (0.0)	6 (12.0)
TDM (n=1)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	0 (0.0)	1 (100)
2016					
MTBC (n=46)	10 (21.7)	0 (0.0)	3 (6.5)	0 (0.0)	10 (21.7)
TDM (n=0)	-	-	-	-	-
2017					
MTBC (n=59)	2 (3.4)	0 (0.0)	1 (1.7)	0 (0.0)	6 (10.2)
TDM (n=1)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	0 (0.0)	1 (100)
2018					
MTBC (n=54)	5 (9.3)	0 (0.0)	3 (5.6)	1 (1.9)	5 (9.3)
TDM (n=0)	-	-	-	-	-
2019					
MTBC (n=44)	4 (9.1)	2 (4.5)	4 (9.1)	0 (0.0)	1 (2.3)
TDM (n=4)	4 (100)	3 (75.0)	4 (100)	3 (75.0)	4 (100)
2020					
MTBC (n=45)	3 (6.7)	0 (0.0)	1 (2.2)	0 (0.0)	5 (11.1)
TDM (n=2)	2 (100)	1 (50.0)	1 (50.0)	2 (100)	2 (100)
2021					
MTBC (n=53)	2 (3.8)	2 (3.8)	1 (1.9)	0 (0.0)	2 (3.8)
TDM (n=3)	3 (100)	3 (100)	3 (100)	2 (66.7)	3 (100)
2022					
MTBC (n=28)	1 (3.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (10.7)
TDM (n=1)	1 (100)	1 (100)	0 (0.0)	1 (100)	1 (100)
TOPLAM					
MTBC (n=415)	33 (8.0)	5 (1.2)	17 (4.1)	1 (0.2)	42 (10.1)
TDM (n=14)	14 (100)	12 (85.7)	12 (85.7)	9 (64.3)	14 (100)

Çalışmada, 10 (%2.4) izolat iki ve 5 (%1.2) izolat ise üç anti-TB ilaca birden dirençli bulundu. İki ilaca dirençliler arasında üç suş ile SM+PZA direnci en fazla görülürken üç ilaca dirençliler arasında üç suş ile INH+SM+PZA direnci en fazla saptandı. Çalışma süresince bulunan çoklu ilaca dirençli MTBC izolatlarının yıllara göre dağılımı Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. 2014-2022 yılları arasında izole edilen MTBC suşlarında birden fazla anti-TB ilaca direnç sıklığı.

Yıllar	Direnç Profili (n)
2014	SM + PZA (1)
2015	INH + SM + PZA (1), RIF + SM (1)
2016	INH + SM (1), INH + PZA (2), SM + PZA (1)
2017	INH + PZA (1)
2018	SM + PZA (1), INH + SM + PZA (1), INH + EMB (1)
2019	INH + SM (1), INH + RIF + SM (1)
2020	INH + SM + PZA (1)
2021	INH + RIF + SM (1)*
2022	-

SM: Streptomisin, PZA: Pirazinamid, INH: İzoniazid, RIF: Rifampisin, EMB: Etambutol.

*2019 yılında pozitif bulunan hastanın 2021 yılındaki olası nüks suşu.

TARTIŞMA

Anti-tüberküloz ilaç direnci, TB tedavisinin başarısını doğrudan etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 2012 ile 2020 yılları arasında ilaç-duyarlı TB olgularında tedavi başarısı %82-90 arasında iken, dirençli suşların neden olduğu TB hastalarının ancak yarısı ile 2/3'ünde tedavi başarısı sağlanmıştır⁽⁷⁾. On üç ülkede gerçekleştirilen bir faz-3 randomize kontrollü çalışmada, ilaç duyarlı suşların tedavisinde dört aylık rifapentin ve kinolon içeren rejimler ile standart altı aylık rejim arasında tedavi başarısı ve yan etki yönünden anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir⁽⁴⁾. Bu konuda artan bilimsel kanıtlar sonucunda DSÖ tarafından 2022 yılında yayınlanan bir tedavi rehberi ile duyarlı suşların neden olduğu komplikasyonsuz TB olgularında altı aylık standart tedavi yerine dört aylık yeni bir tedavi rejimi önerilmeye başlanmıştır⁽²⁰⁾. Bu nedenle, izolatların tüm ilaçlara duyarlılık durumunun saptanması tedavinin içeriği ve süresinin planlanmasında daha fazla önemli hale gelmiştir. Bu çalışmada, 2014 yılında %86 dolayında olan tüm ilaçlara duyarlı MTBC sıklığı 2016 yılına kadar düşüş eğilimi göstermiş ve %63 düzeyine gerilemiştir. İki bin on yedide bu oran yeniden %86 düzeyinin üstüne çıksa da 2019'a kadar tekrar bir düşüş eğilimi göstererek %73'e gerilemiştir (Tablo 1). Ülkemizin TB verilerinin sunulduğu Türkiye'de Verem Savaşı 2020 Raporu'nda⁽¹⁶⁾, 2014-2018 yılları arasında ulusal düzeyde anti-TB ilaç direncinde dikkate değer bir değişim olmadığı görülmektedir. Bu nedenle, çalışmamızda elde ettiğimiz bu iki düşüş göreceli olarak az sayıdaki hastaya ait bölgesel ve geçici bir durum olarak kabul edilmiştir. Çalışmamızda, 2020-2022 arasındaki üç yıllık süre boyunca tüm ilaçlara duyarlı MTBC sıklığı %80-85.7 dolayında değişmiştir. Her ne kadar ulusal düzeye yansımamış olsa da direnç değişimine yol açan bölgesel faktörlerin aydınlatılması gerekmektedir. Dolayısıyla tüm ilaçlara duyarlı MTBC sıklığının takip edilmesi ve frekansta oluşan değişimlere yol açabilecek hasta ve toplum bazlı olası faktörlerin belirlenmesi, direnç trendindeki artışın erken saptanmasına ve buna uygun önleyici politikaların geliştirilmesine olanak tanıyacaktır.

Çalışmamızda MTBC suşlarında en yüksek direnç %10 dolayında PZA'ya karşı görülmüştür. Pirazinamid, makrofaj içinde asidifiye edilmiş basile karşı bakterisidal etkinlik gösteren bir nikotinamid analogu olup standart altı aylık TB tedavi rejiminin ilk iki ayında kullanılmayı önerilen birinci seçenek bir anti-TB ilaçtır⁽¹⁵⁾. Kompleks türler içinde bulunan *Mycobacterium bovis* bu ilaca doğal dirençli olup *M. tuberculosis* DNA'sının *pncA*, *rpsA* ve *panD* gibi gen bölgelerinde oluşan mutasyonların, ilacın aktif formu olan pirazinoik asite dönüşümü veya pirazinoik asitin bağlanma bölgesinde değişimi indükleyerek dirence yol açtığı bildirilmektedir⁽¹³⁾. Çalışmamızda incelenen türler MTBC düzeyinde tanımlandığı ve *M. bovis* ayırımına gidilmemiş olması nedeniyle saptanan bu direncin ne kadarının doğal PZA direnci ve ne kadarının mutasyon kaynaklı bir direnç olduğu saptanamamıştır. Ülkemizde hizmet vermekte olan TB tanı laboratuvarlarına tür tayini için kaynak ayrılması, MTBC türlerinde kazanılmış direncin ortaya konulması için faydalı olacaktır.

Çalışmamızda saptanan en yüksek anti-TB ilaç direnci PZA'ya karşı bulunduğu için bu durumun daha detaylı bir şekilde irdelenmesi gerekliliği doğmuştur. Günümüzde *M. tuberculosis* suşlarının PZA duyarlılığının saptanmasında halen bazı sorunlar bulunmaktadır. Bunlardan ilki özellikle agar proporsiyon yönteminde besiyeri pH'sının PZA'nın aktivite gösterebileceği ve aynı zamanda basilin üreyebileceği düzeyde tutulmasında yaşanan sorunlardır. Diğer taraftan otomatize kültür ve duyarlılık sistemleri arasında; bu sistemlerle referans fenotipik yöntem arasında ve fenotipik direnç ile bu direncin tanımlanmış moleküler determinantları arasında halen tam bir uyum bulunmamaktadır. Dolayısıyla, PZA ilk seçenek anti-TB ilaçlardan olmasına karşın DSÖ tarafından bu ilaç için rutin duyarlılık analizi yapılması önerilmemektedir. Bu nedenle PZA, ilk seçenek ilaçlar içinde, global ve bölgesel direnç sıklığı yönüyle hakkında en az veri bulunan anti-TB ilaçlardandır. Ülkemizin TB verilerinin sunulduğu Türkiye'de Verem Savaşı 2020 Raporu'nda⁽¹⁶⁾, ülkemizin PZA direnç sıklığı hakkında bir veriye rastlanılmamıştır. İki bin on üç yılında yayınlanan bir çalışmada, İzmir ve Manisa bölgesinde izole edilen, PZA dışında tüm primer anti-TB ilaçlara duyarlı 150 MTBC izolatinın beşinde (%3.3) PZA mono-direnci saptanmış ve bunların üçü (%60) *M. bovis* olarak tanımlanmıştır⁽⁸⁾. Yapılan bir sistematik derleme ve meta analiz çalışmasında 2015 yılı itibarıyla dünyada PZA direncinin %16 dolayında olduğu öngörülmüş olup özellikle Afrika kıtası ülkelerde bu oranın daha yüksek olduğu bilinmektedir⁽¹⁹⁾. Çalışmamızda saptanan 42 PZA dirençli izolat yukarıda anlatılan veriler ışığında incelendiğinde; bunlardan 33'ünün (%78.6) PZA mono-dirençli olduğu ve 26'sının (%61.9) akciğer örnekleri olmasına karşın 12'sinin doku, üçünün apse ve birinin idrar örneği olduğu görülmektedir. Pirazinamid mono-dirençli suşlarda ve akciğer dışı lenf nodu dokusu, apse ve idrar örneklerinde

patojenin PZA'ya karşı intirinsik dirençli bir MTBC türü olan *M. bovis* olasılığının artacağı düşünüldüğünde saptadığımız bu %10'luk direncin önemli bir kısmının *M. bovis* kaynaklı doğal direnç olabileceği öngörülmektedir. Bu çalışmada bildirdiğimiz bölgemizin toplam PZA dirençli MTBC sıklığı, yukarıda anlatılan hususlar da göz önüne alındığında; ülkemizde bu ilacın genel direnç sıklığı hakkındaki oldukça kısıtlı mevcut veriye katkı sağlaması, bu konuda ulusal düzeyde bir veri eksikliğimiz olduğunun tekrar hatırlatılması ve *M. bovis* ayrımı için TB tanı laboratuvarlarının güçlendirilmesi gerekliliğinin altını çizmesi gibi nedenlerden dolayı özellikle önemli olmuştur.

Çalışmamızda incelenen MTBC izolatlarında ikinci en fazla direnç %8 ile INH'a karşı olmuştur. İzoniazid, basilin hücre duvarı bileşenlerinden mikolik asit sentezini bozarak bakterisidal etki gösteren ilk seçenek anti-TB bir ilaçtır ve profilaksi, latent TB ve aktif TB tedavisinin tüm aşamalarında kullanılmaktadır. Bu nedenle INH, TB tedavisinde tüm dünyada en fazla kullanılan ilaçtır ve ilacı aktif formu olan izonikotinil radikaline dönüştüren bakteriyel katalaz-peroksidaz enzim geninde (*KatG*) oluşan mutasyonlar başta olmak üzere günümüze kadar onlarca INH direnci ile ilişkilendirilen mutasyon saptanmıştır⁽¹⁷⁾. Çalışmamız süresince %2.8 ila %10 arasında değişim gösteren INH-dirençli MTBC sıklığı 2016 yılında %21'i aşmıştır (Tablo 1). Ülkemizin TB verilerinin sunulduğu Türkiye'de Verem Savaşı 2020 Raporu'nda⁽¹⁶⁾, 2014-2018 yılları arasında ulusal INH direncinin %13.8-12.6 arasında istikrarlı sayılabilir bir düzeyde küçük değişimler gösterdiği bildirilmiştir. Buna göre, bölgemizde 2014, 2017 ve 2020-2022 yılları arasında saptanan INH direncinin ülkemizin direnç düzeyinin yarısından daha az olduğu anlaşılmakta ve 2016 yılındaki belirgin INH direnç artışının yine bölgeye sınırlı ve görece olarak az sayıdaki hasta nedeniyle oluştuğu öngörülmüştür. Dokuz yıllık çalışma sürecimizin beş yılındaki INH direncinin ülkemizin direnç sıklığına göre oldukça düşük bir düzeyde olması ve toplam çalışma süreci içindeki INH direncinin ulusal direnç sıklığına göre yaklaşık %40 daha az olması bu çalışmada dikkat çeken önemli verilerden biridir. Çalışmalarda, dirençli genotiplerin toplumda yayılımı, gereksiz INH kullanımı ve tedavinin yarıda kesilmesi gibi etkiler INH direnç gelişimi ile ilişkilendirilen faktörlerdir⁽⁵⁾. Buna göre, bölgemize dirençli türleri taşıyabilecek göç alma gibi demografik hareketliliğin göreceli olarak daha az olması, ilimizde TB tanı ve tedavi sürçlerinin sıkı takibi ve özellikle ülkemizde %3 dolayında olan tedavi terk durumunun ilimizde görülmemesinin⁽¹⁶⁾ bu sonuçta etkili olabileceği öngörülmüştür.

Çalışmamızda incelenen MTBC izolatlarında SM direnci %4 dolayında saptanmıştır. Streptomisin, aminoglikozid türü bir protein sentez inhibitörü olup ilk seçenek anti-TB ilaçlar arasında yer alır ve genellikle tedavi terk veya nüks hastalarının tedavisinde veya dirençli izolatların neden olduğu TB'da kullanılmaktadır⁽¹⁵⁾. Basilin başlıca S12 ribozomal proteinini kodlayan *rpIS* veya 16S rRNA'sının kodlandığı *rrs* kromozomal gen bölgelerinde oluşan mutasyonlar ilaca karşı direnç ile ilişkilidir⁽¹²⁾. Yapılan çalışmalarda SM direncinin ilacın sık kullanımı sonucu ortaya çıkan seçici etki ile provake edildiği ve ilaç dirençli suş sıklığının ülkeler arasında önemli farklılıklar gösterdiği bildirilmektedir. Örneğin, aynı coğrafi kıta içinde bulunan Almanya'da %3-4.2 SM direnci saptanırken⁽⁵⁾ bu oran Portekiz'de %80'in üzerinde⁽¹¹⁾ bulunmuş ve ülkemizin SM direnç oranı ise 2010-2018 yılları arasında %9.1-11.3 arasında değişmiştir⁽¹⁶⁾. Bu verilere göre çalışmamızda bölgemiz için bulduğumuz SM direnç oranının Türkiye düzeyinin oldukça altında olduğu anlaşılmaktadır. İlimizde tedavi terk hasta sayısının neredeyse yok sayılacak kadar az olması ve diğer komplikasyonlu TB olgularının ülkemize görece olarak belirgin düzeyde az olması gibi nedenlerle SM kullanımının kısıtlı kalmasının bu sonuçla ilişkili olabileceği öngörülmüştür.

Rifampisin, DNA bağımlı RNA polimeraz inhibisyonu yaparak bakterisidal etki gösteren ilk seçenek anti-TB ilaçlardandır. Dokulara ve hücre içine iyi düzeyde penetre olması onu TB'nin neredeyse tüm tedavi rejimlerinin vazgeçilmez antimikrobiallerden biri yapmaktadır. Rifampisin direnci, geçirgenlik azalması ve ilacı hücre dışına atan pompa mekanizmalarının "up-regülasyonu" gibi yollar tarafından sağlanabiliyor olsa da temel mekanizma basilin RNA polimerazını kodlayan beş gen bölgesinden biri olan *rpoB* bölgesinde tanımlanmış bazı mutasyonlar neticesinde ilacın enzime bağlanmasının azalması veya tamamen kaybolması sonucu etki gösterememesi nedeniyle ortaya çıkmaktadır⁽²¹⁾. Rifampisine karşı dirençli olan suşlarla enfekte olan hastalara verilecek anti-TB tedavinin içeriği ve süresinde zorunlu olarak önemli değişimler olmaktadır. Çalışmamızda dokuz yıllık süre içinde toplam 5 (%1.2) izolatta RIF direnci saptanmıştır. Ülkemizin TB verilerinin sunulduğu Türkiye'de Verem Savaşı 2020 Raporu'nda⁽¹⁶⁾, 2010-2018 yılları arasındaki duyarlılık sonuçlarına göre ülkemizde RIF direncinin %4.1 ila %6.8 arasında değiştiği göz önüne alındığında bölgemizde 2014-2022 yılları arasında saptanan RIF direnci ulusal direnç oranına göre yaklaşık 3-5 kat daha düşük olduğu görülmektedir. Çalışmamızda saptadığımız diğer düşük direnç oranları ile birlikte bulduğumuz RIF direnç oranı göz önüne

alındığında, bölgemize ait faktörlerin ve düşük sayıdaki hasta sayısının bu sonuç üzerinde etkili olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda saptanan en düşük direnç EMB'ye karşı olmuştur. Etambutol, TB'a karşı kullanılan ilk antimikrobiallerden olup etkinliğini aktif olarak çoğalan basilin hücre duvar yapısının önemli bir bileşeni olan arabinogalakattan sentezini bozarak gösterir ve bakterinin *embB* ve *ubiA* gen bölgelerinde oluşan mutasyonlar bu ilaca karşı dirençle ilişkilendirilmiştir⁽³⁾. Ülkemizin 2010-2018 verilerine göre Türkiye'de EMB direncinin %3.1 ile %5.4 arasında değiştiği⁽¹⁶⁾ göz önüne alındığında bölgemizde bu ilaca karşı direncin oldukça düşük düzeylerde kaldığı anlaşılmaktadır. Çalışmamızda diğer anti-TB ilaçlara karşı saptanan düşük direnç ile ilişkili olası faktörlere ek olarak; bölgemizde EMB kullanımı gerektiren çoklu dirençli suşlarla enfekte TB hastasının çok az olması ve böylesi hastaların tedavisinin daha büyük ve merkezi sağlık kuruluşlarında yapıyor olması gibi durumların bulunan bu düşük EMB direnci ile ilişkili olabilecek faktörler olarak öngörülmüştür.

Tüberküloza karşı günümüze kadar oldukça az sayıda etkili ilaç geliştirilebilmiş olması ve kombinasyon rejimlerine olan gereksinim göz önüne alındığında, mevcut sınırlı ilaç alternatifleri arasından izolatın birden fazla ilaca dirençli olması durumunda enfeksiyonun sağaltımında önemli zorluklarla karşılaşmaktadır. Çalışmamızda toplam 15 (%3.6) izolat çoklu ilaca dirençli (ÇİD) MTBC suşu olarak tanımlanmış olup bu değer ülkemizin 2016-2018 verisine yakındır. Çalışmamızda 2016 sonrası ÇİD hızında görülen düşüş ve çalışmamızın son yılı olan 2022'de hiç ÇİD izolatı bulunmamış olması da yine ülkemizde son yıllarda ÇİD insidansında görülen düşüş⁽¹⁶⁾ ile uyumludur.

İki bin yirmi yılında başlayan Coronavirus Hastalığı-19 (COVID-19) pandemisinde, TB hastalarının tanı ve tedavisinde oluşan bazı aksaklıklar neticesinde tespiti yapılan TB hastalarının sayısında %25'e varan azalma olduğu ve TB nüksü olan hastaların arttığı bildirilmiştir⁽¹⁸⁾. Ancak pandeminin ülkemizde izole edilen MTBC suşlarının anti-TB ilaç direncine nasıl yansıdığı hakkında yayınlanmış veri henüz yoktur. Çalışmamızda, pandeminin etkili olduğu 2020-2022 arasındaki üç yıllık periyotta dirençli izolat frekansında göreceli olarak azalma gözlenmiş olması bu anlamda diğer önemli bir bulgu olarak görülebilir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar diğer taraftan ülkemizin yüksek antimikrobiyal direnç sorununun çözümüne ışık tutabilecek bazı hususlar da içermektedir. Tüberkülozda saptanan bu düşük direnç sıklığına karşın Türkiye'de birçok son seçenek antibiyotiğe karşı dirençli Gram negatif bakteri sorunu yıllar öncesinde başlamış ve önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir⁽⁹⁾. Dolayısı ile TB'da olduğu gibi mikrobiyoloji laboratuvarlarının hem konvansiyonel hem de moleküler testlerle güçlendirilmesi ve sunulan tanısal hizmetlerin topluma etkili bir şekilde yayılması ile ülkemizde önemli bir sorun haline gelmiş olan gereksiz antimikrobiyal kullanımı azaltılabilir.

Bu çalışmada, ülkemizin nüfus yoğunluğu olarak yaklaşık %1'ini oluşturan bölgemizin dokuz yıllık TB duyarlılık verileri incelenmiş ve elde edilen sonuçlar tüm ilaçlara duyarlı MTBC sıklığı, her bir anti-TB ilacın direnç sıklığı ve çoklu ilaca dirençli izolat sıklığı olarak üç ana başlıkta değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz veriler, bölgemizde tek ilaç direnç sıklığının ülkemiz değerlerinin belirgin olarak altında olduğunu göstermiştir. Bu hususta bölgemizin demografik özellikleri, daha az göç alma durumu, sağlık hizmetine erişim kolaylığı ve yaşam koşullarının göreceli olarak iyi sayılabilir bir düzeyde olmasının yanında ilimizde tanı, tedavi ve önleme başlıkları altında sürdürülen veremle savaş uygulamalarının bir sonucu olarak da görülebilir. Ülkemizle birlikte bölgemizde de son yıllarda görülen anti-TB ilaç direnci sıklığındaki azalma, uygulamadaki önlemlerin bir başarısı olarak düşünülebilir. Ülkemizde TB'nin eradike edilmesi adına yürürlükteki veremle savaş politikamızın etkinliği daha kapsamlı ve devamlı bir şekilde takip edilmeli, aksaklıklar saptanıp giderilmeli ve yeni politikalar geliştirilmelidir.

Etik Kurul Onayı: İnönü Üniversitesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulunun 05.09.2023 tarih ve 2023/4873 sayı numaralı onayı ile yapıldı.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Ethics Committee Approval: It was carried out with the approval of the İnönü University Non-Interventional Ethics Committee dated 05.09.2023 and numbered 2023/4873.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial support: No financial support was received for the project.

KAYNAKLAR

1. Ankrah AO, Glaudemans AWJM, Maes A, Van de Wiele C, Dierckx RAJO, Vorster M, Sathekge MM. Tuberculosis. *Semin Nucl Med.* 2018;48(2):108-30.
2. Conradie F, Diacon AH, Ngubane N, Howell P, Everitt D, Crook AM, et al. Treatment of highly drug-resistant pulmonary tuberculosis. *N Engl J Med.* 2020;382(10):893-902.
3. Dookie N, Rambaran S, Padayatchi N, Mohamed S, Naidoo K. Evolution of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a review on the molecular determinants of resistance and implications for personalized care. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(5):1138-51.
4. Dorman SE, Nahid P, Kurbatova EV, Phillips PPJ, Bryant K, Dooley KE, et al. Four-month rifapentine regimens with or without moxifloxacin for tuberculosis. *N Engl J Med.* 2021;384(18):1705-18.
5. Glasauer S, Altmann D, Hauer B, Brodhun B, Haas W, Perumal N. First-line tuberculosis drug resistance patterns and associated risk factors in Germany, 2008-2017. *PLoS One.* 2019;14(6):e0217597.
6. Global Tuberculosis Report 2021. Geneva: World Health Organization; (2021).
7. Global Tuberculosis Report 2022. Geneva: World Health Organization; (2022).
8. Kalır N, Özkütük AA, Esen N, Özkütük N. Pyrazinamide monoresistance in clinical isolates. *Turkish J Med Sci.* 2013;43(1):163-7.
9. Poirel L, Yakupoğulları Y, Kizirgil A, Dogukan M, Nordmann P. VIM-5 metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas putida* from Turkey. *Int J Antimicrob Agents.* 2009;33(3):287.
10. Reach the 3 Million. Find. Treat. Cure TB. World Health Organization 2014, Geneva. <http://www.stoptb.org> Ulaşım Tarihi: 03.08.2023)
11. Rocha DMGC, Magalhães C, Cá B, Ramos A, Carvalho T, Comas I, et al. Heterogeneous streptomycin resistance level among *Mycobacterium tuberculosis* strains from the same transmission cluster. *Front Microbiol.* 2021;12:659545.
12. Rocha DMGC, Viveiros M, Saraiva M, Osório NS. The neglected contribution of streptomycin to the tuberculosis drug resistance problem. *Genes (Basel).* 2021;12(12):2003.
13. Shi J, Su R, Zheng D, Zhu Y, Ma X, Wang S, et al. Pyrazinamide resistance and mutation patterns among multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* from Henan Province. *Infect Drug Resist.* 2020;13:2929-41.
14. The Global Plan to End TB 2023-2030. World Health Organization (2023). <https://www.stoptb.org> Ulaşım Tarihi: 03.08.2023
15. Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi, TC Sağlık Bakanlığı. Yayın No: 1129, Ankara, (2019).
16. Türkiye’de Verem Savaşı 2020 Raporu, T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Yayın No: 1205. Ankara, (2021).
17. Unissa AN, Subbian S, Hanna LE, Selvakumar N. Overview on mechanisms of isoniazid action and resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Infection, Genetics and Evolution.* 2016;45:474-92.
18. Yakupogullari Y, Ermis H, Kazgan Z, Otlu B, Bayindir Y, Gulbas G, et al. Diagnostic and treatment outcomes of patients with pulmonary tuberculosis in the first year of COVID-19 pandemic. *East Mediterr Health J.* 2022;28(9):682-9.
19. Whitfield MG, Soeters HM, Warren RM, York T, Sampson SL, Streicher EM, et al. A global perspective on pyrazinamide resistance: Systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2015;10(7):e0133869.
20. WHO Consolidated Guidelines on Tuberculosis. Module 4: Treatment. Drug-Susceptible Tuberculosis Treatment. Geneva: World Health Organization; (2022).
21. Xu G, Liu H, Jia X, Wang X, Xu P. Mechanisms and detection methods of *Mycobacterium tuberculosis* rifampicin resistance: The phenomenon of drug resistance is complex. *Tuberculosis (Edinb).* 2021;128:102083.